

PENGENDALIAN VEKTOR MALARIA MENGUNAKAN BIOINSEKTISIDA DI HABITAT SUNGAI PADA MUSIM KEMARAU DI KECAMATAN KOKAP KABUPATEN KULON PROGO

*Malaria Vector Control Using Bioinsecticide in the River
Habitat during Dry Season in Kokap Subdistrict,
Kulon Progo Regency*

Yamtana¹, Damar Tri Boewono², dan Soeyoko³

*Program Studi Ilmu Kesehatan Kerja
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada*

ABSTRACT

Kokap sub-district is a hilly area. During dry season, the river flow is small water bodies are formed. Those water holding bodies are potential for *Anopheles* spp growth. Therefore, alternative control of malaria vector that is environmentally friendly, effective and efficient for the area.

The aims of this study was to determine the difference of the killing power effect of bioinsecticides: *B. thuringiensis* H-14 of liquid formulation, *B. thuringiensis* H-14 of granule formulation, and *B. sphaericus* H-5a5b granule formulation on *Anopheles* spp. larvae density water holding during dry season.

This was a quasi experimental study using a multiple time series frame design. The study was conducted in water holding bodies where *Anopheles* spp. develops in three rivers where larvae are found, in Kokap sub-district Kulonprogo regency in the special Province of Yogyakarta. The study started by distributions bioinsecticides: *B. thuringiensis* H-14 liquid formulation for 1 liter/ha dosage in 15 water holding bodies of 0.6-10.0 m² in the Progo River; spreaded *B. thuringiensis* H-14 granule formulation of 500 mg/ha dosage in 15 water holding bodies of 0.9-10.0 m² in the Tegiri River; *B. sphaericus* H-5a5b granule formulation of 500 mg/ha dosage in 15 wallows of 1.0-10.0 m² in the Geseng River. Meanwhile in each of the control group, each blank formulations was distributed in 5 water holding bodies of 0.7-10.0 m² in three rivers. Data analyzed using Anova ver. 10.0 for Windows, followed by comparing among those in the treatment group using Duncan Test.

The results showed that Bioinsecticide: *B. thuringiensis* H-14 liquid formulation, *B. thuringiensis* H-14 granule formulation, and *B. sphaericus* H-5a5b granule formulation decreased *Anopheles* spp. larvae density in water holding bodies with 70% water for 7 days, and 14 days. Anova showed a significant difference ($p < 0.01$) on the effect to kill *Anopheles* spp. larvae among the bioinsecticides *B. thuringiensis* H-14 liquid for-

1) Politeknik Kesehatan Jayapura

2) Balai Penelitian Vektor & Reservoir Penyakit, Salatiga

3) Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

mulation, *B. thuringiensis* H-14 granule formulation, and *B. sphaericus* H-5a5b granule formulation in during dry season.

Bioinsecticides: *B. thuringiensis* H-14 liquid formulation, *B. thuringiensis* H-14 granule formulation, and *B. sphaericus* H-5a5b granule formulation decreases the *Anopheles* spp. larvae density. There were three significant differences of mortality among the three kinds of bioinsecticides on *Anopheles* spp. larvae density in the water holding bodies near human habitation during the dry seasons.

Keywords: *bioinsecticide* – *Anopheles* spp. – *river habitat*

PENGANTAR

Kecamatan Kokap merupakan daerah endemis malaria, dengan angka kesakitan malaria paling tinggi di Propinsi D.I. Yogyakarta. Sejak tahun 1995 *Annual Parasite Incidence (API)* malaria selalu meningkat pada tahun 2001 sebesar 501,99 ‰. Kecamatan Kokap merupakan daerah pegunungan dengan banyak aliran sungai yang secara alamiah selalu terisi air. Pada musim kemarau sungai-sungai tersebut banyak terbentuk kobakan air, yang cocok sebagai tempat perkembangbiakan nyamuk vektor malaria. Permasalahannya adalah apakah bioinsektisida dapat dipergunakan untuk mengendalikan kepadatan larva *Anopheles* spp. di habitat sungai ?. Penelitian ini ingin mengetahui perbedaan pengaruh daya bunuh antar tiga jenis bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. pada kobakan air di habitat sungai.

Di Indonesia sampai saat ini terdapat 24 spesies *Anopheles*, yang benar-benar sebagai vektor malaria berdasarkan : distribusi geografis, pemastian peranan sebagai vektor, dan bionomik stadia dewasa dan pradewasa. Di Kecamatan Kokap ditemukan *An. maculatus*, *An. balabacensis*, dan *An. flavirostris*, dua spesies yang dominan dan telah dilaporkan sebagai vektor malaria, yaitu *An. maculatus* dan *An. balabacensis*^{1,2}.

Di bidang pengendalian vektor, *B. sphaericus* serotipe H-5a5b dan *B. thuringiensis* serotipe H-14 mendapat perhatian khusus dari WHO, karena sangat toksik dan bersifat selektif (hanya membunuh larva nyamuk dan larva lalat hitam), aman terhadap manusia, aman terhadap hewan lain yang bukan sasaran, serta ramah lingkungan³. Hipotesis penelitian ini adalah, ada perbedaan pengaruh daya bunuh antar tiga jenis bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. di habitat sungai daerah permukiman penduduk pada musim kemarau.

CARA PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimental semu (*Quasi Experimental*), dengan rancangan *Multiple Time Series Design*. Banyaknya ulangan dihitung menggunakan rumus : $(t-1)(R-1) > 15$, maka jumlah ulangannya adalah 10 untuk setiap perlakuan. Variabel bebas yaitu bioinsektisida : *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair; *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula, dan *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula, sedangkan variabel tergantung yang diteliti adalah kepadatan larva *Anopheles* spp. pada kobakan air.

Lokasi penelitiannya adalah di tiga habitat Sungai : Progo, Tegiri dan Geseng, di Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulon Progo, D.I. Yogyakarta. Setiap sungai dibagi menjadi dua wilayah, yaitu sungai bagian bawah sebagai kelompok perlakuan, dan sungai bagian atas sebagai kelompok kontrol. Luas setiap kobakan air berkisar antara 0,6–10 m².

Jalan penelitian ini, adalah mengukur dan mencatat temperatur air dan pH air. Menghitung kepadatan larva *Anopheles* spp. sebelum aplikasi, melakukan aplikasi dengan cara meneteskan bioinsektisida formulasi cair, dan menaburkan bioinsektisida formulasi granula. Mengevaluasi, menghitung kepadatan, serta persen reduksi larva *Anopheles* spp. setelah aplikasi bioinsektisida pada hari ke : 1, 2, 4, 7, 14, 21, dan 28. Persen reduksi dihitung berdasarkan formula Mulla, et al⁴.

$$\text{Persen reduksi} = 100 - \frac{C1 \times T2}{T1 \times C2} \quad 100 \%$$

Keterangan :

C1 = jumlah larva *Anopheles* spp. di daerah kontrol sebelum perlakuan;

C2 = jumlah larva *Anopheles* spp. di daerah kontrol sesudah perlakuan;

T1 = jumlah larva *Anopheles* spp. di daerah perlakuan sebelum perlakuan;

T2 = jumlah larva *Anopheles* spp. di daerah perlakuan sesudah perlakuan.

Data dianalisis dengan menggunakan *One Way Anova* program SPSS versi 10.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kecamatan Kokap memiliki wilayah seluas 73,79 km², yang terdiri dari lahan pekarangan 75,51 %, lahan hutan 10,94 %, lahan bangunan/

halaman 5,25 %, lahan sawah 1,33 %, dan sisanya merupakan daerah aliran sungai. Nama-nama sungai di Kecamatan Kokap, yaitu Geseng, Tegiri, Progo, Kebon Dalem, Segedhoh, Gunung Kukusan, Kedungsole, Kedunglongan, Ngrancah, Plampang, Kalirejo, dan Jambon.

Pengamatan kepadatan larva *Anopheles* spp. rata-rata pada kobakan air kelompok kontrol sebelum diaplikasi dengan ketiga jenis bioinsektisida adalah 6,24 ekor/ciduk. Pada kobakan air yang diaplikasi bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dosis 1 liter/ha, persen reduksi larva *Anopheles* spp. pada pengamatan hari ke 1 (97,80%) sampai dengan hari ke 28 (26,84 %). Setelah diberi perlakuan bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula dengan dosis 500 gram/ha, persen reduksi larva *Anopheles* spp. pada hari ke 1 (100 %) sampai pada hari ke 28 (39,03 %). Setelah aplikasi bioinsektisida *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula dengan dosis 500 gram/ha, persen reduksi larva *Anopheles* spp. pada hari ke 1 (30,30 %) sampai hari ke 28 sebesar 38,34 % (Tabel 1, 2, dan 3).

Hasil dari *Anova* adalah nilai *F*hitung = 32,281; *p* = 0,000; berarti hipotesis diterima. Jadi ada perbedaan yang sangat bermakna (*p*<0,01) antar perlakuan dari tiga jenis bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. di habitat sungai pada musim kemarau.

Tabel 1. Persen reduksi larva *Anopheles* spp. sesudah aplikasi *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dosis 1 liter/ha pada kobakan air di habitat Sungai Progo, Desa Hargowilis, Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulon Progo, D.I. Yogyakarta

No.	Pengamatan kepadatan larva <i>Anopheles</i> spp. pada	Kepadatan larva <i>Anopheles</i> spp.(ekor/ciduk)		Persen reduksi (%)
		Kobakan kontrol	Kobakan perlakuan	
1.	1 hari sebelum aplikasi	6,24	5,50	
	Sesudah aplikasi hari ke			
2	1	6,34	0,13	97,80
3	2	6,29	0,24	95,53
4	4	6,47	0,64	89,33
5	7	6,51	1,45	75,21
6	14	5,83	2,25	56,83
7	21	5,34	2,61	45,09
8	28	5,20	3,41	26,84

Keterangan :

pH air : 7 – 7,5

Suhu air : 26 – 29 °C

Tabel 2. Persen reduksi larva *Anopheles* spp. sesudah aplikasi *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula dosis 500 gram/ha pada kobakan air di habitat Sungai Tegiri, Desa Hargowilis, Kec. Kokap, Kab. Kulon Progo, D.I. Yogyakarta

No.	Pengamatan kepadatan larva <i>Anopheles</i> spp. pada	Kepadatan larva <i>Anopheles</i> spp.(ekor/ciduk)		Persen reduksi (%)
		Kobakan kontrol	Kobakan perlakuan	
1.	1 hari sebelum aplikasi	6,24	4,00	
	Sesudah aplikasi hari ke			
2	1	6,34	0,00	100,00
3	2	6,29	0,209	97,53
4	4	6,47	0,40	90,64
5	7	6,51	0,88	79,03
6	14	5,83	1,20	67,59
7	21	5,34	1,78	48,28
8	28	5,20	2,05	39,03

Keterangan :

pH air : 7-7,5

Suhu air : 26-29 °C

Tabel 3. Persen reduksi larva *Anopheles* spp. sesudah aplikasi *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula dosis 500 gram/ha pada kobakan air di habitat Sungai Geseng Desa Hargorejo, Kec. Kokap, Kab. Kulon Progo, D.I. Yogyakarta

No.	Pengamatan kepadatan larva <i>Anopheles</i> spp. pada	Kepadatan larva <i>Anopheles</i> spp.(ekor/ciduk)		Persen reduksi (%)
		Kobakan kontrol	Kobakan perlakuan	
1.	1 hari sebelum aplikasi	6,24	5,40	
	Sesudah aplikasi hari ke			
2	1	6,34	3,86	30,30
3	2	6,29	0,26	95,18
4	4	6,47	0,64	89,04
5	7	6,51	1,26	78,13
6	14	5,83	1,53	70,14
7	21	5,34	1,66	64,16
8	28	5,20	2,81	38,34

Keterangan :

pH air : 7-7,5

Suhu air : 26-29 °C

Bioinsektisida untuk pengendalian kepadatan larva *Anopheles* spp.

Bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dan *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula setelah ditetaskan dan ditaburkan, maka spora kristal delta endotoksin akan cepat menyebar rata meliputi seluruh permukaan perairan. Keadaan ini mendorong larva *Anopheles* spp. akan lebih mudah, lebih cepat serta dapat mempercepat laju penelanan terhadap endotoksin *B. thuringiensis* H-14, akhirnya larva *Anopheles* spp. akan segera mati.

Menurut WHO spora kristal delta endotoksin *B. thuringiensis* H-14 mempunyai efek daya bunuh sangat cepat, hanya beberapa menit setelah pendedahan larva nyamuk akan mati⁵. Selain itu Abbot menerangkan bahwa, bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 dapat mengendalikan semua instar larva nyamuk, dan dapat dievaluasi 1-4 jam sesudah aplikasi, tetapi tidak lebih dari 7 hari⁶.

Pada pengamatan hari ke 4 sampai dengan hari ke 28 setelah aplikasi, terjadi kenaikan kepadatan larva *Anopheles* spp., hal ini disebabkan oleh: a). pada hari ke 2 bioinsektisida dapat menyebar meliputi seluruh permukaan air di kobakan, sehingga hampir semua larva *Anopheles* spp. mempunyai peluang untuk memakan spora kristal delta endotoksin, yang akhirnya akan mengalami kematian; b). pada hari ke 4 sampai dengan hari ke 28 efektivitas bioinsektisida telah mengalami penurunan; c). pada hari ke 2 kemungkinan terdapat telur nyamuk yang belum menetas atau pada waktu tersebut terdapat nyamuk yang meletakkan telur di kobakan air.

Pengaruh aplikasi bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. dengan persen reduksi lebih dari 70 %, untuk *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dapat bertahan selama 7 hari, *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula bertahan selama 7 hari, dan *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula bertahan selama 14 hari.

Perbedaan pengaruh antar tiga jenis bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp.

Hasil *Anova* terhadap data pengamatan setelah perlakuan antar tiga jenis bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. pada kobakan air, adalah nilai $F_{hitung} = 32,281$; $p = 0,000$; berarti hipotesis diterima. Jadi ada perbedaan pengaruh yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antar perlakuan dari tiga jenis bioinsektisida terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. di habitat sungai pada musim kemarau.

Hal ini dapat dijelaskan bahwa bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dengan *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula,

mempunyai bahan dasar yang sama. Walaupun demikian tetapi kedua bioinsektisida tersebut mempunyai daya bunuh yang berbeda terhadap larva sasaran, berbeda dalam kemasannya, serta berbeda dalam pembuatannya. Menurut Soedarmo formulasi cair berbeda dengan formulasi granula, perbedaan ini biasanya terletak pada komposisi bahan aktif dan bahan pembawanya⁷. Perbedaan tersebut karena berbeda dalam formulasi, kemasan, dan pembuatannya, disamping itu juga terdapat perbedaan faktor lingkungan fisik, kimia, biologis juga mempengaruhi efektivitas bioinsektisida terhadap larva sasaran di lapangan. Hal ini sesuai dengan pendapat Arunachalam, et al. yang mengemukakan bahwa, daya bunuh bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 dipengaruhi antara lain oleh jenis formulasinya⁸.

Hasil penelitian ini terjadi perbedaan, antara lain karena faktor lingkungan fisik seperti kondisi kobakan dengan tidak adanya penambahan air. Dengan demikian luas permukaan air dalam kobakan tidak bertambah, tetapi justru menyusut akibat adanya penguapan air yang tinggi pada musin kemarau. Selain itu didalam kobakan air terdapat sampah dedaunan dan ranting, seperti daun/ranting : bambu, jati, mahoni, rumput, serta zat organik lainnya yang mengalami proses pembusukan, hal ini akan mempengaruhi kualitas air dalam kobakan. Kualitas air ini antara lain dengan adanya perubahan kandungan oksigen, *Biological Oxygen Demand* (BOD). Kualitas air dalam kobakan ini kemungkinan dapat mengganggu/mengurangi efektivitas daya bunuh bioinsektisida. Kondisi demikian juga dilaporkan oleh Lee, et al. dan Kramer, daya bunuh bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti iklim dan sinar matahari^{9,10}.

Jenis/bahan dasar dari tempat penampungan air (TPA) atau kobakan air dan macam endapannya, berupa sampah dedaunan yang tenggelam, lumpur, pasir, kerikil, sehingga akan memudahkan bioinsektisida yang mengendap kemudian mudah meresap/masuk ke dalam pori-pori dasar kobakan air. Kondisi seperti ini dapat mengurangi kesempatan larva *Anopheles* spp. dalam menelan/memakan spora kristal delta endotoksin dari bioinsektisida yang bersangkutan. Lingkungan biologis yang terdapat di kobakan air tempat penelitian antara lain, dari golongan hewan seperti berudu, anggang-anggang, katak, dan jasad renik lainnya, sedangkan dari golongan tumbuhan misalnya ganggang, lumut. Lingkungan biologis tersebut sedikit banyak akan mempengaruhi efektivitas daya bunuh bioinsektisida, karena tidak menutup kemungkinan biota air tersebut ikut memakan/menyerap spora kristal delta endotoksin dari bioinsektisida yang bersangkutan. Mulla, et al. mengatakan bahwa, persen reduksi larva pada kolam

bervegetasi lumut lebih rendah daripada kolam tanpa vegetasi dan kolam bervegetasi rumput⁴. Hal ini terjadi karena keberadaan lumut dapat mempengaruhi aktivitas dan daya gerak larva serta penyebaran spora kristal delta endotoksin *B. thuringiensis* H-14, sehingga kemampuan makan larva terhambat.

Penelitian ini dilaksanakan pada akhir musim kemarau panjang, hal ini tentunya faktor lingkungan seperti iklim akan mempengaruhi terjadinya peningkatan penguapan air di kobakan, peningkatan temperatur air, sehingga volume/luas permukaan air akan menyusut. Penyusutan volume/luas permukaan air berkurang secara drastis, bahkan ada air kobakan yang sampai mengering. Kondisi dan kejadian ini tentu juga dapat mempengaruhi efektivitas daya bunuh bioinsektisida yang bersangkutan, terhadap larva *Anopheles* spp. pada kobakan air di habitat sungai. Keadaan seperti ini menurut Lee, *et al.* dan Kramer yang mengemukakan bahwa, faktor lingkungan seperti iklim dan sinar matahari dapat mempengaruhi daya bunuh bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14^{9,10}.

Bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dalam pelaksanaan aplikasinya dengan cara diteteskan keseluruh permukaan air yang ada di kobakan. Bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula dalam aplikasinya dengan cara ditaburkan keseluruh permukaan air yang ada di kobakan. Cara aplikasi bioinsektisida ini diduga juga dapat mempengaruhi efektivitas daya bunuh bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 terhadap larva sasaran. Lacey menyatakan bahwa, spora kristal delta endotoksin *B. thuringiensis* H-14 dalam inklusi paraspora lebih mudah dan lebih cepat mengalami degradasi di dalam air, sedangkan spora kristal delta endotoksin *B. sphaericus* H-5a5b dilindungi oleh dinding spora yang lebih kuat, sehingga lebih tahan dan lebih lama terdegradasi di dalam air^{3,11}.

Dalam penggunaannya bioinsektisida *B. sphaericus* H-5a5b, antara lain mempunyai potensi daur ulang, dan mempunyai efek residu yang cukup lama, potensi resistensi yang terbatas tidak toksik terhadap lingkungan dan organisme bukan sasaran khususnya predator larva nyamuk. Efektivitasnya dapat bertahan lama meskipun di habitat air kotor/terpolusi, aman bagi bagi manusia, dan stabil dalam penyimpanan¹².

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Bioinsektisida : *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair, *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula, dan *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula dapat digunakan untuk mengendalikan kepadatan larva *Anopheles* spp. di habitat sungai pada musim kemarau.
2. Ada perbedaan pengaruh daya bunuh yang sangat bermakna antar bioinsektisida : *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair, *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula, dan *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp. di habitat sungai pada musim kemarau.

Saran

Pengendalian vektor malaria di habitat sungai pada musim kemarau, di Kecamatan Kokap dapat menggunakan bioinsektisida *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula dengan dosis 500 gram/ha. Bioinsektisida *B. sphaericus* H-5a5b formulasi granula lebih baik daripada *B. thuringiensis* H-14 formulasi cair dan *B. thuringiensis* H-14 formulasi granula, karena mempunyai pengaruh daya bunuh yang paling lama terhadap kepadatan larva *Anopheles* spp..

DAFTAR PUSTAKA

1. Atasti, L., 1995, *Beberapa Aspek Bionomik Nyamuk An. Dalam Rangka Pengendalian Vektor Malaria di Kecamatan Kokap Kabupaten Kulon Progo*. Tesis S-2 Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada. Tidak diterbitkan, Yogyakarta.
2. Barodji, Umi, W., Widiarti, Mujiono dan Tri S., 1995, Uji Coba Pyriproxyfen S-31183 (Adeal) Terhadap *An. maculatus*, *An. flavirostris* dan *An. balabacensis* di Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 23 (2) : 21-26.
3. World Health Organization, 1999, *Bacillus thuringiensis*, International Programme on Chemical Safety. WHO, Geneva.
4. Mulla, M.S., Darwazeh, H.A., Davidson, E.W., and Dulmage, H.T., Ede, L., Kennedy, B., 1985, Efficacy and Field Evaluation of *Bacillus thuringiensis* (H-14) and *Bacillus sphaericus* Against Floodwater Mosquitoes in California. *J Am Mosq Control Assoc*. 1(3) : 310-315.
5. World Health Organization, 1991, *Biological Control of Vectors*. UNDP/World Bank/WHO, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, Geneva. 97-101.

6. Abbot Laboratories, 1993, *Bacillus thuringiensis* H-14 life cycle. The sequence of events associated with using *B. thuringiensis israelensis* (Bti) for control of mosquito larvae. Abbot Laboratories, Chicago.
7. Sudarmo, S., 1991, *Pestisida*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
8. Arunachalam, N., Reddy, C.M.R., Hoti, S.L., Kuppusamy, M., and Balaraman, K., 1991, Evaluation of *B. sphaericus* Formulation Against the vector of Bancroftian Filariasis. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*. 22 (2) : 160-164.
9. Lee, H.L., Pe, T.H., and Cheong, W.H., 1986, Laboratory Evaluation of the Persistence of *Bacillus thuringiensis var israelensis* Against *Aedes aegypti* Larvae. *Mosq Born Dis Bull*. 2(3): 61-66.
10. Kramer, V.L., 1990, Efficacy and Persistence of *Bacillus sphaericus*, *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, and Methoprene Against *Culiseta invidens* (Diptera : Culicidae) in Tires. *J Econ Entomol*. 83(4): 1280-1285.
11. Lacey, L.A., 1984, Production and Formulation of *Bacillus sphaericus*. *Mosq News* 44 (2-Part I): 153-159.
12. Ragoonanasingh R.N., Njuwa K.J., Curtis C.F., and Becker N., 1992, A field study of *B. sphaericus* for the control of Culicine and Anopheline mosquito larvae in Tanzania. *Bull. Soc. Vector Ecol*. 17 (1) : 45-50.